衛生化学
EISEI KAGAKU
31 (3) 201-204 (1985)

北海道噴火湾産の毒化ホタテガイにおける部位別 PSP 組成について

浅川 学, 高木光造, 大石圭一

北海道大学水産学部

Anatomical Distribution of the Toxins in PSP-Infested Scallops from Funka Bay, Hokkaido

MANABU ASAKAWA, MITSUZO TAKAGI

and KEIICHI OISHI

Faculty of Fisheries, Hokkaido University, 1-1,

Minatocho 3-chome, Hakodate 041, Japan

(Received November 30, 1984)

Paralytic shellfish poison(PSP)-infested specimens of the scallop *Patinopecten yessoensis* collected from Funka Bay, Hokkaido, in June 1984, were dissected into the digestive gland, gonads, mantle, gills and adductor muscle, and examined on the anatomical distribution of toxicity and toxin composition.

Toxicity was assayed by A.O.A.C. method for PSP by using 18—20 g male mice (ddY). The toxins were analyzed by cellulose acetate membrane electrophoresis.

The highest toxicity was detected in the digestive gland (40 MU/g), followed by mantle (3 MU/g) and gills (2 MU/g). In gonads and adductor muscle, toxicity was less than 2 MU/g.

As to toxin compositions, a remarkable difference was observed between the adductor muscle and other organs. In the digestive gland, gonads, mantle and gills, gonyautoxin (GTX) group comprised 75—94% of toxicity as major components, and saxitoxin (STX) group was minor. In the adductor muscle content of GTX group was low in comparison with that in other organs, comprising 49% of toxicity.

Keywords—paralytic shellfish poison; *Patinopecten yessoensis*; gonyautoxin; neosaxitoxin; saxitoxin

緒 言

麻痺性貝毒 Paralytic Shellfish Poison (PSP) は、二枚貝が *Protogonyaulax tamarensis* や *P. catenella* などの有毒プランクトンを捕食した結果、体内に蓄積される低分子の自然毒である。PSP の成分として現在 gonyautoxin (GTX) 群, neosaxitoxin (neoSTX) 及び saxitoxin (STX) が知られており, GTX 群は更に GTX₁₋₈ 及び GTX₈ のエピマーの 9 成分に細分される。¹⁾

既報²⁻⁵⁾において著者らは、北海道噴火湾に分布している *P. tamarensis* 及びそれにより毒化した二枚貝の PSP 組成について報告した。その際、*P. tamarensis* 及び毒化ホタテガイ、毒化ムラサキガイに含まれる PSP の組成は、共に GTX 群を主成分としている点では一致

していたが、個々の PSP 成分の相対含量に相違が認められたことから、二枚貝の体内で PSP 成分の変換が行われていることを推測した。

今回、二枚貝における PSP 毒化機構に関する研究の一環として、北海道噴火湾産の毒化ホタテガイを用いて、その部位別 PSP 組成を調べた結果、PSP の貝体内変換機構を示唆する興味ある知見が得られたので以下に報告する。

実 験 の 部

1. 試料 1984年6月1日、北海道噴火湾沿岸の砂原町で採取した養殖ホタテガイ *Patinopecten yessoensis* を使用した。

2. 毒性試験 むき身、中腸腺、生殖巣、外とう

膜, えら及び貝柱の毒性値を A.O.A.C. 法⁶⁾に従い, 体重 18–20 g の ddY 系のマウス (♂) を用いて測定した。

3. PSP の抽出・精製 上記ホタテガイ 100 枚を中腸腺, 生殖巣, 外とう膜, えら, 貝柱の 5 つの部位に分けた。これら各部位からの PSP 抽出・精製法は既報⁶⁾に準じたが, 一部改変した点もあるので以下に述べる。すなわち, 試料を 80% エタノール (pH 2.0) を用いて抽出し, 得られた抽出液をクロロホルムで脱脂した後, 活性炭処理をした。次いで脱着液を減圧濃縮後, Bio-Gel P-2 カラム ($\phi 5 \times 30$ cm) に付し, 水洗後, 0.15 N 酢酸 2000 ml にて有毒成分を溶出させた。更に, 得られた有毒成分を減圧濃縮後, Bio-Rex 70 (H⁺ 型) カラム ($\phi 1 \times 90$ cm) に付し, 水洗後, 0.03 N 酢酸 (350 ml) 及び 1.30 N 酢酸 (250 ml) を用いる stepwise 法により GTX 画分及び STX 画分に分画精製した。

4. 分析法 上述のようにして精製した PSP を用いてセルロースアセテート膜電気泳動 (CAME)^{2,3,5)} を行い, *P. tamarensis* より調製した PSP 標品 (GTX₁₋₄, neoSTX, STX)⁷⁾ と比較した。この際, 1% 過酸化水素水を噴霧後, 110°C, 10 分間の加熱により 365 nm の UV ランプ下で, GTX_{1,4} 及び neoSTX を黄緑色のスポットとして, また, GTX_{2,3} 及び STX を青色のスポットとして検出した。

結果と考察

噴火湾産毒化ホタテガイの部位別毒性値の測定結果を Table I に示す。PSP は, 中腸腺に最も多く蓄積され, その毒性値も 40 MU/g と, 他の器官の毒性値, すなわち, 生殖巣 (ND), 外とう膜 (3 MU/g), えら (2 MU/g), 貝柱 (ND) に比べて極めて高い値を示した。

Table II に 0.03 N 酢酸及び 1.30 N 酢酸を用いた stepwise 法により Bio-Rex 70 カラムより溶出される PSP の組成を示す。中腸腺, 生殖巣, 外とう膜, えらに含まれる PSP においては, GTX 群がそれぞれ 75%, 94%, 89%, 79% を占める主成分であり, STX 群は副成分であった。これは, ホタテガイの餌生物となる有毒プランクトン *P. tamarensis* における PSP 組成^{2,7)} を反映している。しかし, 貝柱の場合, GTX 群及び STX 群の相対含量はそれぞれ 49%, 51% であり, *P. tamarensis* における PSP 組成とは明らかに異なっていた。

Fig. 1 に Bio-Rex 70 カラムクロマトグラフィーにより各器官から得られた GTX 画分及び STX 画分の CAME 分析の結果を示す。貝柱における GTX 画分からは, GTX₁ を主とし未同定の副成分を含んで検出されているのに対して, 中腸腺及び生殖巣からは GTX₁ 以

TABLE I. Anatomical Distribution of the Toxicity in Scallops^{a)} from Funka Bay

Digestive gland	Toxicity (MU/g)			
	Gonad	Mantle	Gill	Adductor muscle
40	ND ^{b)}	3	2	ND ^{b)}

a) Toxicity of shucked meat was 4 MU/g.

b) ND: less than 2 MU/g.

TABLE II. Toxin Composition in Various Parts of Organs of Scallops from Funka Bay

Organ	Composition ^{a)}	
	Fr. I (GTX group)	Fr. II (STX group)
Digestive gland	75 %	25 %
Gonad	94 %	6 %
Mantle	89 %	11 %
Gill	79 %	21 %
Adductor muscle	49 %	51 %

a) Expressed in relative ratio of toxicity.

外に GTX₂₋₄ が, 外とう膜からは GTX₁ 以外に GTX_{2,3} が, えらからは GTX₁ 以外に GTX₃ が検出されている。他方, STX 画分において, neoSTX 及び STX は各器官から共通して検出された。なお, STX 画分に含まれ GTX₁ 及び GTX₂ に相当する *R_m* を持つ成分は, 1% 過酸化水素水との反応により 365 nm の UV ランプ下で, それぞれ黄色及び黄緑色のスポットとして検出され, GTX₁ 及び GTX₂ の標品とは明確に区別された。

上述のような貝柱と他の器官との間に見られる PSP 組成の相違は, Table II に示される PSP 成分の量的関係を考慮すると, 貝柱が他の器官とは異なり, 食物連鎖の過程で蓄積される PSP の組成を変化させるある種の機構を持っていることを示唆しているものと考えられる。

Shimizu ら⁸⁾ は, 貝柱などの運動器官における PSP 成分の代謝機構の存在を示唆する報告をしている。すなわち, 同氏らは, 無毒のホタテガイ貝柱をホモジナイズし, PSP と共にインキュベートすると, STX が 56.3% 増加する反面, GTX₁ 及び neoSTX がそれぞれ 16.6%, 18.2% 減少すると報告している。

GTX₁₋₄ の化学構造は, それぞれ GTX₁: 11 α -hydroxy neosaxitoxin sulfate, GTX₂: 11 α -hydroxy saxitoxin sulfate, GTX₃: GTX₂ の 11 β エピマー, GTX₄: GTX₁ の 11 β エピマー¹⁾ であり, これらは究極的には STX の誘導体である。Shimizu ら⁸⁾ は, 貝柱は中腸腺, 生殖巣, 外とう膜, えらなどの器官とは, 異な

Fig. 1. Electrophoretic Patterns of the Toxins Contained in GTX group (A) and STX group (B)

Electrophoresis was conducted on a cellulose acetate membrane in 0.08 M Tris-HCl buffer (pH 8.7) under a current of 0.8 mA/cm for 30 min. The toxins were detected under UV light (365 nm) after spraying the membrane with 1% hydrogen peroxide and heating at 110°C, for 10 min. Relative mobility (R_m) was calculated by assuming mobility of STX as 1.0.

1: digestive gland, 2: gonad, 3: mantle, 4: gill, 5: adductor muscle.

The oval of solid line is stronger in fluorescence than the oval of dotted line.

り、運動器官という機能上、多くの酸化還元酵素を保有しており、上述のような化学構造を持つ PSP が蓄積される際、C-11 位の OSO_3^- や N-1 位の OH の還元的脱離が行われ、STX に変換する代謝過程の存在を考えている。また、このような立場から、同氏ら⁹⁾は、PSP 変換物質の 1 つとして、緩やかな還元物質であるシステインをあげ、GTX_{2,3} から STX への *in vitro* 変換を示している。

最近、安元ら¹⁰⁾は、GTX₁₋₃を保有する石灰藻の *Jania* sp. を摂食するスベスベマンジュウガニ *Atergatis floridus* やヒメイワオウギガニ *Eriphia scabricula* に含まれる PSP の主成分 neoSTX や STX は、カニ体内の酵素よりもむしろ細菌の作用により GTX₁₋₃ が変換し蓄積された可能性が高いと報告しているが、二枚貝の体内、特に貝柱中に蓄積される PSP 成分の変換については、細菌が関与していることは考えにくい。

ところで、GTX_{3,2} の前駆体と推定される GTX₃ 及び GTX₃ エピマーの化学構造は、それぞれ carbamoyl-N-

sulfo-11 β -hydroxy saxitoxin sulfate 及びその 11 α -エピマーであるが、¹¹⁾ 著者らは前報⁷⁾で、これらの成分が、0.1 N 塩酸を用いる酸加水分解により carbamoyl 基に結合している SO_3^- を遊離し、GTX_{3,2} に変換することを示した。

今後、著者らは、生体内 PSP 変換物質の検索を進めて行くとともに、上述の GTX₃ 及び GTX₃ エピマーの二枚貝生体内における存在状態などについても検討する予定である。

結 語

1984 年 6 月、北海道噴火湾において PSP により毒化したホタテガイを採取し、その部位別 PSP 組成を調べ、次の結果を得た。

すなわち、中腸腺、生殖巣、外とう膜、えらに含まれる PSP において、GTX 群は毒性の 75—94% を占める主成分であり、STX 群は副成分であった。他方、貝柱に含まれる PSP において、GTX 群は毒性の 49% を占め、他の器官の GTX 群含量に比べて低かった。

引用文献

- 1) 日本水産学会, “有毒プランクトン, 水産学シリーズ Vol. 42,” 恒星社厚生閣, 東京, 1982, pp. 88—101.
- 2) 浅川 学, 高木光造, 北大水産研究彙報 **34**, 35 (1983).
- 3) 浅川 学, 高木光造, 北大水産研究彙報 **34**, 140 (1983).
- 4) M. Asakawa, M. Takagi, *Bull. Fac. Fish. Hokkaido Univ.*, **34**, 345 (1983).
- 5) 浅川 学, 高木光造, 衛生化学, **30**, 19 (1984).
- 6) W. Horwitz, “Official Methods of Analytical Chemists,” 13 th ed., A.O.A.C., Washington, D.C., 1980, p. 298.
- 7) 浅川 学, 高木光造, 衛生化学, **30**, 328 (1984).
- 8) Y. Shimizu, M. Yoshioka, *Science*, **212**, 547 (1981).
- 9) Joint Meeting of the American Society of Pharmacognosy and the Society for Economic Botany, Boston, Mass., July 1981.
- 10) 小瀧裕一, 大島泰克, 安元 健, 昭和59年度日本水産学会春季大会講演要旨集, 1984, p. 207.
- 11) Y. Onoue, T. Noguchi, J. Maruyama, K. Hashimoto, H. Seto, *J. Agric. Food Chem.*, **31**, 420 (1983).